

集成論文：

## 子宮頸部腺癌の化学療法に関する基礎的・臨床的検討

竹 原 正 輝

札幌医科大学医学部産婦人科学講座 (主任 工藤隆一 教授)

Thesis：

Experimental and Clinical Study on Chemotherapy for Cervical Adenocarcinoma

Masaki TAKEHARA

*Department of Obstetrics and Gynecology, Sapporo Medical University, School of Medicine*

(Chief : Prof. R. KUDO)

**ABSTRACT** We examined the chemosensitivity of adenocarcinoma of the cervix in advanced, recurrent and high risk patients. First, we studied chemosensitivity against 12 anticancer drugs by in vitro colony forming assay using 4 cervical adenocarcinoma cell lines. Those lines were OMC-4 (well differentiated), CAC-1 (moderately differentiated), TMCC-1 (poorly differentiated) and JSK-1 (endometrioid type). In vitro sensitivity was defined as a 70% or greater inhibition of colony formation when compared to controls. The 4 drugs which showed effectivity in all cell lines were VP-16, ACM, ADM, ACD. MMC showed high effectivity in the 3 lines of endocervical adenocarcinoma. CDDP showed it in only CAC-1.

Next, we examined the effectiveness of the 5 anticancer drugs MMC, CDDP, ACM, ACD and VP-16 in nude mice transplanted with the above 4 lines of adenocarcinoma. The therapeutic effects were assessed in terms of growth inhibition rates and histological effects in the transplanted tumors of nude mice. The following results were obtained: In single drug administration, MMC was effective in all tumors, and CDDP was effective in 3 kinds of tumors in terms of growth inhibition. Histological findings under the drugs did not correlate with therapeutic findings.

In combined administration, MMC+CDDP was the most effective in terms of growth inhibition; this combination showed an additive effect, and MMC and CDDP were concluded to be key drugs for treating cervical adenocarcinoma.

On the basis of these results, we used combination therapy with CDDP, ACM and MMC (here termed PAM) against cervical adenocarcinoma in 9 patients with advanced or recurrent adenocarcinoma of the uterine cervix. This regimen was administered intravenously or intraarterially. In intravenous infusion, it consisted of CDDP 70 mg/m<sup>2</sup> and ACM 30 mg/m<sup>2</sup> on Days 1 and MMC 5 mg/m<sup>2</sup> on Days 2 and 3. In intraarterial infusion, CDDP 70 mg/m<sup>2</sup>, ACM 30 mg/m<sup>2</sup> and MMC 10 mg/m<sup>2</sup> were given in one shot or over a series of some days, every 4 weeks. The overall response rate was 66.7%. This included one complete (CR) and five partial (PR) responses. The patient showing CR has survived for 7.5 years since adjuvant irradiation therapy.

The 5 PR patients improved enough to be operable, and 3 have survived for 1 year~ 2 years.

---

この集成論文は「緒言」の項に記した3編の論文内容を骨子として作成されており、図表の引用は、出版元の許可を得ている。

This thesis is based on the three papers indicated in the Introduction, and are published with permission from the publishers.

The toxicities of this regimen were not significant. Chemotherapy by this regimen seems to improve the prognosis of advanced, recurrent or high risk patients following radical surgery or irradiation therapy.

(Received April 26, 1996 and accepted July 31, 1996)

**Key words:** Adenocarcinoma, Uterine cervix, Chemotherapy

## 1 緒 言

子宮頸部腺癌(以下頸部腺癌)は子宮頸癌の5~10%を占め、近年相対的に増加する傾向にある。その予後は子宮頸部扁平上皮癌(以下扁平上皮癌)と比較して不良であり、リンパ節転移の頻度が高いこと、放射線感受性が低いことが原因として考えられている。頸部腺癌に対する治療は扁平上皮癌が比較的初期の段階で発見され、治療されることが多くなった現在、子宮頸癌全体の予後を改善するために、今後重要な位置を占めて行くものと考えられる。これらのことより頸部腺癌の治療成績を改善するには扁平上皮癌の主治療である手術、放射線療法のみでは困難であり、進行・再発症例さらにはリンパ節転移が確認された術後再発の high risk 症例に対する集学的治療が重要で、その治療法の1つとして有効な化学療法を確立することが急務である。

このため、われわれは基礎実験として、まず、樹立報告のほとんどなかったヒト頸部腺癌株(CAC-1)を樹立し、その抗癌剤感受性を検討したが、その後本邦で樹立された分化度の異なる3細胞株(OMC-1, TMCC-1, JSK-1)を恵与され、disease oriented screening systemとし、婦人科領域で繁用される12種類の抗癌剤を用いて、in vitro colony forming assayを行った。その結果、頸部腺癌に有効な抗癌剤を選択した。次にin vitroで選択された抗癌剤を用いてin vivo実験系での効果を検討するために上記の4細胞株のヌードマウス移植腫瘍系を確立し、単剤、多剤併用での効果を検討した。

この基礎実験の結果から効果が確認されたCDDP+ACM+MMCの3剤併用(以下PAM)療法を9例の直接評価可能な進行・再発頸部腺癌症例に対して臨床評価を行い、その臨床効果に関して検討したのでこれらの成績について報告する。

〈集成した自著論文リスト〉

なお、本論文は3編の原著と一部未発表のデータを加えた集成論文である。

- 1) 早川 修, 工藤隆一, 小泉基生, 山内 修, 山本裕之, 竹原正輝. ヒト子宮頸部腺癌培養細胞株(CAC-1)の樹立とその性状および各種抗癌剤に対

する感受性の検討. 札幌医誌, 1988, 57: 603~611.

- 2) 竹原正輝, 早川 修, 工藤隆一. 子宮頸部腺癌の化学療法に関する基礎的・臨床的検討. 日産婦誌, 1995, 47: 405~412.

- 3) 竹原正輝, 早川 修, 福中規功, 林 卓宏, 小泉基生, 工藤隆一. PAM療法(CDDP+ACM+MMC)による進行・再発子宮頸部腺癌の治療成績. 日癌治誌, 1995, 30: 1888~1896.

## 2 方 法

### 2.1 In vitroにおけるヒト頸部腺癌細胞株の抗癌剤感受性の検討

使用した細胞株はわれわれが樹立した内頸部型腺癌株であるCAC-1(中等度分化型)と同じく内頸部型腺癌株であるOMC-4(高分化型:大阪医科大学 山田隆司博士供与), TMCC-1(低分化型:東京医科大学 坂本優博士供与)と類内膜型腺癌株であるJSK-1(高分化型:東京慈恵会医科大学 佐々木寛博士供与)の4株である。

抗癌剤感受性の検討はin vitro colony forming assayによる北野, 長瀬<sup>4)</sup>のmicrocolonies inhibition testに準じて行った。方法は24 well multidish(Nunc社)に各培養細胞を $1 \sim 5 \times 10^3$  viable cells/wellで植え込み、対数増殖期に入る培養3日目に各種抗癌剤と接触させた。続いて抗癌剤を除去するためにリン酸緩衝液で3回洗浄後、抗癌剤を含まない培養液を用いて培養を継続した。そして約1~2週間後に抗癌剤未添加のコントロールのコロニーが8細胞以上になっていることを確認し、ギムザ染色を行った。各々のwellのコロニー数を算定し、コントロールのコロニー数と比較検討した。

感受性を検討した抗癌剤(Table 1)は5-fluorouracil(5FU:協和発酵), methotrexate(MTX:レダグリー), bleomycin(BLM:日本化薬), vincristine(VCR:塩野義), vinblastine(VLB:塩野義), etoposide(VP-16:日本化薬), cisplatin(CDDP:日本化薬), adriamycin(ADM:協和発酵), aclacinomycin(ACM:山之内), actinomycin D(ACD:メルク),

Table 1 *In vitro* で使用した各種抗癌剤濃度 (臨床使用量での最高血中濃度)

drugs	$\mu\text{g/ml}$		$\mu\text{g/ml}$
5-Fluorouracil (5FU)	10.0	Cisplatin (CDDP)	2.0
Methotrexate (MTX)	3.0	Adriamycin (ADM)	0.4
Bleomycin (BLM)	2.0	Aclacinomycin (ACM)	0.6
Vincristine (VCR)	0.1	Actinomycin D (ACD)	0.1
Vinblastine (VLB)	0.1	Mitomycin C (MMC)	1.0
Etoposide (VP-16)	30.0	Cyclophosphamide (40487S)	3.0

mitomycin C (MMC: 協和発酵), cyclophosphamide の活性型である 4-hydro-peroxy cyclophosphamide の 12 剤を使用した。抗癌剤の使用量を Table 1 に示す。

抗癌剤との接触時間は時間依存性を考慮して 1 時間と 24 時間の 2 群に分け、添加濃度は各々の臨床使用量での最高血中濃度を基準として、1 時間接触群では最高血中濃度相当とその 1/2, 1/10 濃度に、24 時間接触群では 1/2, 1/10, 1/50 濃度の 3 濃度に設定した。

## 2.2 ヌードマウスを使用した *in vivo* 実験系での抗癌剤感受性の検討

*in vitro* で使用した 4 細胞株を SPF 条件下で飼育されたヌードマウス (BALB/c nu/nu, 5~6 週齢, ♀) の左右の背部皮下に接種し、3 代以上継代して腫瘍の増殖が安定していることを確認し、実験を開始した。使用した薬剤は *in vitro* で選択された MMC, CDDP, ACM, VP-16, ACD の 5 剤である。

各抗癌剤の投与量は単剤投与では総投与量を LD<sub>50</sub> とし、1/3 LD<sub>50</sub> に相当する MMC; 3 mg/kg, CDDP; 6 mg/kg, ACM; 10 mg/kg, VP-16; 20 mg/kg, ACD; 0.5 mg/kg とし、腹腔内に 4 日ごとに 3 回投与した。2 剤併用では各抗癌剤の投与量を 1/2 LD<sub>50</sub>, 3 剤併用では 1/3 LD<sub>50</sub> とした。1 回の腹腔内投与量は 0.2 ml で抗癌剤を投与しないコントロール群には生食を 0.2 ml 投与した。多剤併用時の抗癌剤の選択は単剤投与実験で最も効果のあった抗癌剤を中心に 2 剤, 3 剤の組合せを選択した。実験は 1 群 5 匹とし、腫瘍径と体重の測定は初回投与日を実験開始 0 日目とし、隔日に計測し、21 日目で終了とした。副作用の判定はヌードマウスの体重が抗癌剤投与後 20% 以上の減少を認めた場合や死亡した場合とした。

実験は Battelle Columbus Laboratories Protocol に準じて施行した。すなわち、腫瘍径の長径, 短径を測定し、推定腫瘍重量 (mg) = (長径 mm) × (短径 mm)<sup>2</sup> × 1/2 にて算出し、この推定重量が 100~300 mg になった時点で薬剤投与を開始した。実験 0 日目の推

定腫瘍重量と実験中の推定腫瘍重量の比をとり、腫瘍増殖曲線を作成した。腫瘍増殖抑制率 (inhibition rate: I. R.) は  $I. R. (\%) = (1 - \text{治療群の相対平均腫瘍重量} / \text{対照群の相対平均腫瘍重量}) \times 100$  から算出した。薬剤の効果判定は実験終了日の 21 日目の I. R. が 58% 以上を有効, 58% 未満を無効とした。この I. R. 58% 以上とは治療群の腫瘍各径が対照群に比較して 3/4 以下になった場合の推定腫瘍重量から決定された値である。

また、病理組織学的効果判定は実験終了日に腫瘍を摘出し、Hematoxylin-Eosin 染色を行い、腫瘍中央部最大径の全剖面所見を婦人科がんの治療による組織学的効果判定規準に基づいて grade 分類し、grade 2 (かなりの効果: 2/3 以上に変性, 壊死, 融解, 消失を認める。) 以上を有効と判定した。また、増殖動態を検討するために抗 PCNA 抗体を用いて免疫染色を行い、抗癌剤投与による PCNA 陽性細胞数の変化について検討を加えた。

## 2.3 臨床使用症例の対象と方法

*In vivo* の実験結果と動注療法に適した抗癌剤として CDDP, ACM, MMC の 3 剤を併用した PAM 療法が選択された。1989 年 7 月から 1995 年 4 月までに PAM 療法を施行した進行・再発癌症例は 9 例であり、手術あるいは放射線療法単独で根治することが困難であると考えられた症例であった (Table 2)。また、これらの症例の Performance Status は grade 0 で、化学療法前の諸検査では異常を認めなかった。症例の平均年齢は 57.6 才 (45~75 才) であった。組織型は内頸部型腺癌 7 例, 類内腺型腺癌 1 例, 腺扁平上皮癌 1 例であり、進行期は II b 期 3 例, III b 期 3 例, IV b 期 2 例, 再発 1 例であった。これらの症例に対して直腸診, コルポスコーピー, 超音波, CT, MRI を施行し、化学療法の効果を確認した。

抗癌剤の投与方法は静脈内投与では第 1 日目に CDDP 70 mg/m<sup>2</sup>, ACM 30 mg/m<sup>2</sup>, 第 2・3 日目に MMC 5 mg/m<sup>2</sup> を 4 週間毎に投与した。動注は亜選択的, 選択的の 2 つの方法で施行した。亜選択的動注は

Table 2 進行再発子宮頸部腺癌に対する PAM 療法の臨床効果

症 例	年 齢	病 期	遠隔転移部位	組 織 型	投与法(回数)	効 果
1	45	IIb	(一)	腺扁平上皮癌	動注(4)	CR
2	45	IIIb	(一)	中分化型腺癌	動注(2)	NC
3	63	IVb	肺	高分化型腺癌	静注(3)	NC
4	50	IIIb	(一)	高分化型腺癌	動注(2)	PR
5	54	IVb	Virchow リンパ節	低分化型腺癌	静注(5)	PR
6	75	IIb	(一)	中分化型腺癌	静注(3)	NC
7	68	IIb 再発	腹壁・脾門部	高分化型腺癌	静注(6)	PR
8	73	IIIb	(一)	高分化型腺癌	動注(3)	PR
9	45	IIb	(一)	類内膜型腺癌	動注(2)	PR

大腿動脈より総腸骨動脈分岐部直上の腹部大動脈にカテーテルを留置し、CDDP 70 mg/m<sup>2</sup> を第1～5日目に、ACM 30 mg/m<sup>2</sup> を第1, 5日目にそれぞれ分割投与し、MMC 10 mg/m<sup>2</sup> を第5日目に投与した。選択的動注は左右の内腸骨動脈を経由して子宮動脈の近傍からCDDP 70 mg/m<sup>2</sup>, ACM 30 mg/m<sup>2</sup>, MMC 10 mg/m<sup>2</sup> を1回投与し、4週間毎に反復した。動注療法の選択は原則として遠隔転移のない骨盤内に局限した症例とした。

効果の判定は婦人科がん化学療法の直接効果判定規準を用い、副作用の判定は日本癌治療学会の「副作用の記載様式」に準じて判定し、grade 2 以上を記載した。さらに症例4, 5, 7～9はPAM療法後に手術を施行し、摘出物の組織学的効果を検討した。効果判定は婦人科がんの治療による組織学的効果判定規準を使用した。

### 3 成 績

#### 3.1 In vitro での抗癌剤感受性の結果

In vitro colony forming assay の結果は90%以上のコロニー形成抑制率を示した場合を++、70～90%未満を+、70%未満を-と判定した (Table 3)。この結果1時間接触あるいはその1/10濃度の24時間接触でコロニー形成抑制率が70%以上を有効の条件とするとVP-16, ACM, ADM, ACDが4株すべてに共通の感受性を示した (Table 4)。また、MMCは内頸部型腺癌株3株に高い感受性を示した。また、CDDPはCAC-1にのみ感受性を示した。以上より、in vitro の実験からはVP-16, ACM, ADM, ACD, MMCの5剤の抗腫瘍効果が期待された。

#### 3.2 In vivo での抗癌剤感受性の結果

In vitro の結果より得られた薬剤VP-16, ACM, ACD, MMCの4剤 (ACMはADMの誘導体であり効果は同等以上とされ、また心毒性が少ないとされているため選択した。)とCDDPを選択した。CDDPはin vitro ではCAC-1のみに感受性を示したが婦人科領域で現在最も繁用される抗癌剤のためin vivo での効果を確認するために選択した。

##### 3.2.1 腫瘍増殖曲線とI. R. による効果判定 (Fig. 1～4, Table 5)

薬剤投与開始日と比較した平均腫瘍重量比が1.00未満で退縮傾向が認められた薬剤は、JSK-1ではMMC, CDDP, MMC+CDDPとCAC-1ではCDDP+MMC+ACDのみであった。I. R. 58%以上で単剤で有効と判定された薬剤はCAC-1, TMCC-1, JSK-1ではMMC, CDDPの2剤であり、それぞれのI. R. はCAC-1では61.0%, 66.3%, TMCC-1で64.2%, 60.1%であり、特にJSK-1では75.8%, 72.0%と高い効果を示した。また、OMC-4においてもMMCが64.1%で有効と判定され、CDDPも56.6%とほぼ有効に近い値を示した。単剤ではこの2剤以外に有効と判定された抗癌剤はなかった。多剤併用で有効と判定された薬剤は、CAC-1ではCDDP+ACD (61.9%), CDDP+MMC+ACD (79.5%), TMCC-1ではMMC+CDDP (68.8%), CDDP+ACD (58.4%), MMC+CDDP+VP-16 (62.6%), MMC+CDDP+ACD (60.6%), JSK-1ではMMC+CDDP (72.0%)であった。すなわち、単剤で効果のあったMMC+CDDPあるいはそれら2剤を含む3剤の組合せが有効と判定されることが多かった。さらにMMCとCDDP

Table 3 *In vitro colony forming assay* での抗癌剤感受性の結果

		CDDP				5FU				MTX				BLM				VP-16				VLB			
		1	1/2	1/10	1/50	1	1/2	1/10	1/50	1	1/2	1/10	1/50	1	1/2	1/10	1/50	1	1/2	1/10	1/50	1	1/2	1/10	1/50
CAC-1	1h	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	++	++	-	-	-	-	-	-
	24h	-	++	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	++	++	-	-	+	+	+
OMC-4	1h	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
	24h	-	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	++	+	-	-	-	-	-
TMCC-1	1h	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	++	+	-	-	-	-	-	-
	24h	-	++	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	++	++	++	-	+	+	-
JSK-1	1h	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
	24h	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	++	+	-	-	+	+	-
		VCR				ADM				ACM				MMC				ACD				40487S			
		1	1/2	1/10	1/50	1	1/2	1/10	1/50	1	1/2	1/10	1/50	1	1/2	1/10	1/50	1	1/2	1/10	1/50	1	1/2	1/10	1/50
CAC-1	1h	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	++	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	24h	-	++	+	-	-	++	++	-	-	++	++	-	-	++	++	++	-	++	++	-	-	-	-	-
OMC-4	1h	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	24h	-	+	-	-	-	++	+	-	-	++	++	-	-	++	++	-	-	++	+	-	-	-	-	-
TMCC-1	1h	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	++	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	24h	-	++	++	-	-	++	++	-	-	++	++	+	-	++	++	++	-	++	++	-	-	+	-	-
JSK-1	1h	-	-	-	-	-	-	-	-	++	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	24h	-	++	++	-	-	++	+	-	-	++	++	-	-	+	-	-	-	++	++	-	-	-	-	-

Table 4 *In vitro colony forming assay* で感受性が認められた抗癌剤

Cell line Exposure time (drug concentration peak plasma level=1.0)		Inhibition of microcolony formation	
		≥70%	≥90%
CAC-1	1h (1.0)	VP-16, MMC, CDDP	VP-16, MMC
	24h (0.1)	ACD, ACM, MMC, ADM VP-16, VCR, VLB, CDDP	ACD, ACM, MMC, ADM VP-16
OMC-4	1h (1.0)	VP-16, ACM, MMC	
	24h (0.1)	MMC, ACM, ACD, VP-16 ADM	MMC, ACM
TMCC-1	1h (1.0)	MMC, VP-16	MMC, VP-16
	24h (0.1)	MMC, VP-16, ADM, VCR ACD, ACM, VLB	MMC, VP-16, ADM, VCR ACD, ACM
JSK-1	1h (1.0)	ACM, VP-16	ACM
	24h (0.1)	ACM, ACD, VCR, VP-16 ADM, VLB	ACM, ACD, VCR

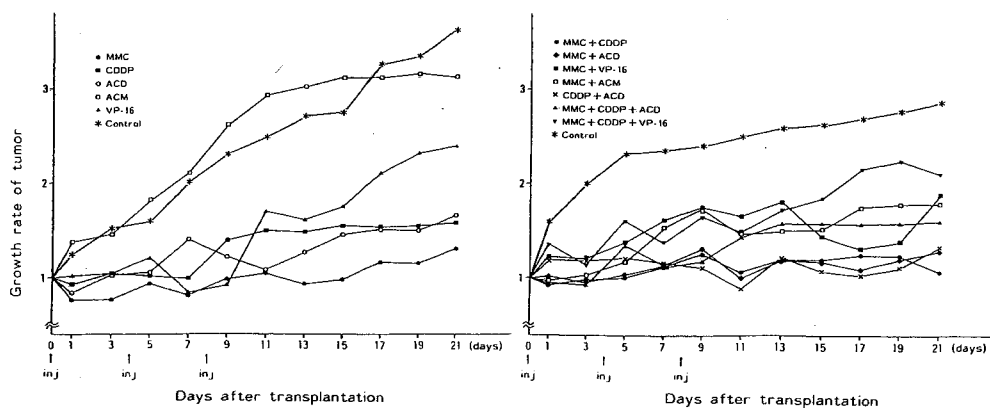


Fig. 1 OMC-4 における腫瘍増殖曲線 (右側; 多剤, 左側; 単剤)

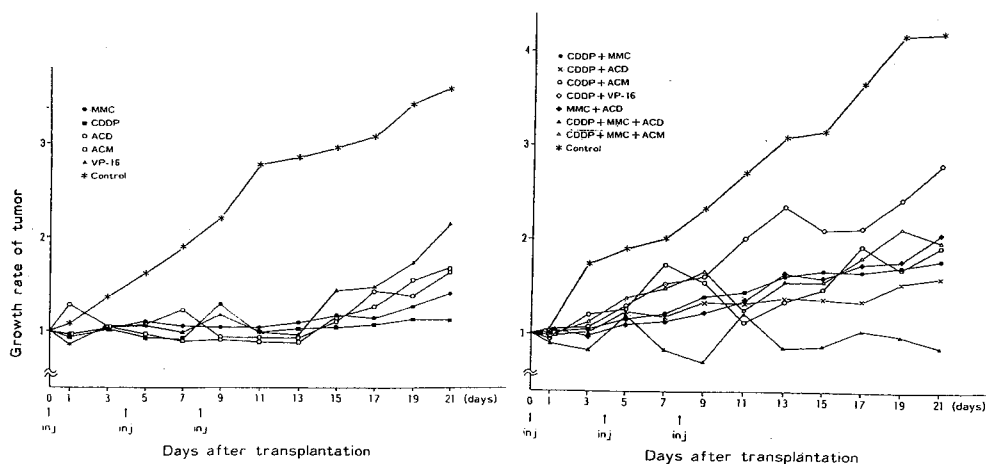


Fig. 2 CAC-1 における腫瘍増殖曲線 (右側; 多剤, 左側; 単剤)

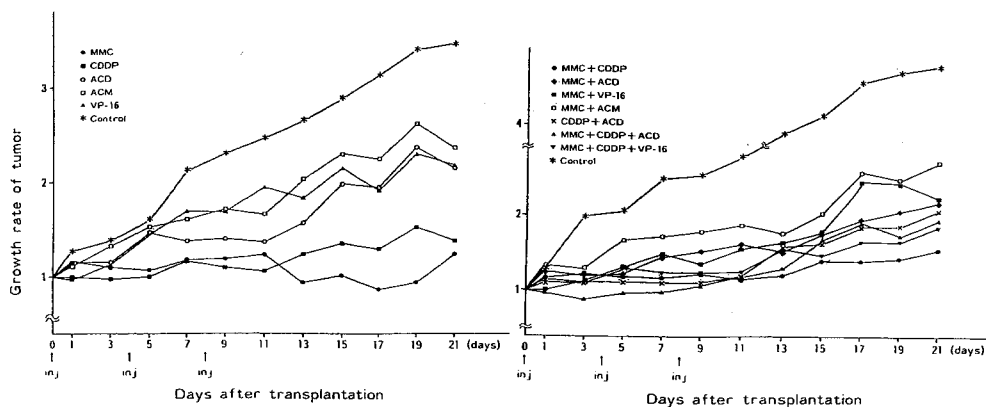


Fig. 3 TMCC-1 における腫瘍増殖曲線 (右側; 多剤, 左側; 単剤)

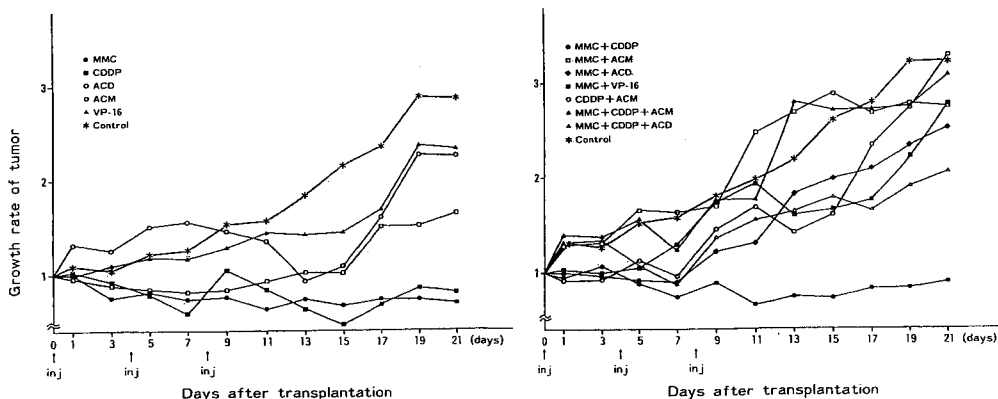


Fig. 4 JSK-1 における腫瘍増殖曲線 (右側; 多剤, 左側; 単剤)

Table 5 頸部腺癌細胞株に対する抗癌剤の感受性結果 (I. R.=Inhibition Rate, %)

細胞株	I. R. ≥58%		I. R. <58%	
OMC-4	MMC (64.1)		CDDP (56.6)	MMC+CDDP (54.4)
			ACD (54.1)	MMC+ACD (49.4)
			VP-16 (34.0)	CDDP+ACD (49.4)
			ACM (13.8)	MMC+VP-16 (48.6)
				MMC+CDDP+ACD (36.7)
				MMC+ACM (30.1)
				MMC+CDDP+VP-16 (22.0)
CAC-1	CDDP (66.3)	CDDP+MMC+ACD (79.5)	ACD (54.5)	CDDP+MMC (57.4)
	MMC (61.0)	CDDP+ACD (61.9)	ACM (54.2)	CDDP+ACM (54.3)
			VP-16 (40.2)	CDDP+MMC+ACM (52.9)
				MMC+ACD (51.0)
				CDDP+VP-16 (3.6)
TMCC-1	MMC (64.2)	MMC+CDDP (68.8)	ACD (37.9)	MMC+ACD (55.9)
	CDDP (60.1)	MMC+CDDP+VP-16 (62.6)	VP-16 (37.6)	MMC+VP-16 (55.5)
		MMC+CDDP+ACD (60.6)	ACM (31.8)	MMC+ACM (45.3)
		CDDP+ACD (58.4)		
JSK-1	MMC (75.8)	MMC+CDDP (72.0)	ACM (42.0)	MMC+CDDP+ACM (36.0)
	CDDP (72.0)		ACD (21.5)	MMC+ACM (22.0)
			VP-16 (19.0)	MMC+ACD (14.6)
				MMC+VP-16 (14.0)
				MMC+CDDP+ACD (4.3)
				CDDP+ACM (0.0)

の2剤併用では全ての細胞株において相加効果を上回る効果を示した。

### 3・2・2 組織学的効果判定 (Table 6)

grade3の著効を示した薬剤はなく、TMCC-1でのMMC単剤投与とCAC-1でのMMC, CDDP, ACD, CDDP+ACM, CDDP+MMC+ACD, CDDP+

ACM+MMCがgrade2を示し有効と判定された。

I. R. と組織学的効果判定との一致率は、I. R. が58%以上示したもののなかでgrade2を示し有効の判定が一致したものは35.7% (5/14) であり、腫瘍の縮小が著明な場合の組織学的効果判定との一致率は低かった。一方、I. R. が58.0%未満のものでgrade0, 1を示し無効

Table 6 組織学的効果判定結果

	単 剤		多 剤	
OMC-4	MMC	1a	MMC+CDDP	1a
	CDDP	1a	MMC+ACD	1a
	ACD	0	MMC+ACM	1a
	ACM	1a	MMC+VP-16	1a
	VP-16	0	CCDP+ACD	0
			MMC+CDDP+ACD	1a
CAC-1			MMC+CDDP+VP-16	1a
	MMC	2	CDDP+MMC	2
	CDDP	2	CDDP+ACD	2
	ACD	2	CDDP+ACM	2
	ACM	2	CDDP+VP-16	1b
	VP-16	2	MMC+ACD	1b
TMCC-1			CDDP+MMC+ACD	2
			CDDP+MMC+ACM	2
	MMC	2	MMC+CDDP	1a
	CDDP	1b	MMC+ACD	1b
	ACD	1a	MMC+VP-16	1b
	ACM	1a	MMC+ACM	1a
JSK-1	VP-16	1a	CDDP+ACD	1b
			MMC+CDDP+VP-16	1a
			MMC+CDDP+ACD	1b
	MMC	1b	MMC+CDDP	1b
	CDDP	1b	MMC+ACD	1a
	ACD	0	MMC+ACM	0
	ACM	1a	MMC+VP-16	1a
	VP-16	0	CDDP+ACM	0
			MMC+CDDP+ACD	1a
			MMC+CDDP+ACM	1a

の判定が一致したものは82.4% (28/34) で無効例の組織学的効果判定との一致率は高かった。また、抗PCNA抗体による免疫染色による検討では各薬剤間で染色された陽性細胞数に著明な変化は認められなかった。

### 3・2・3 副作用

実験期間中に20%以上の体重減少や死亡したヌードマウスは認められなかった。

#### 3・3・1 進行・再発癌症例での効果の検討

PAM療法を9例に施行した結果、CR1例、PR5例、NC3例(MR1例)で奏効率66.7%であった(Table 2)。

これらの症例で効果が著明であった症例1, 5, 7に関して経過を概略する。

①症例1：頸部腺扁平上皮癌II b期。頸部の腫瘍径は5 cm以上でCT上、骨盤、旁大動脈リンパ節の多発

性腫大が認められた。最初に腔内照射を施行したが病巣は縮小せず、腫瘍マーカーは治療前後で比較するとCEA (40.4 → 52.9 ng/ml), CA-125 (47 → 122 U/ml), SCC (40.6 → 69.2 ng/ml)といずれも上昇した。このためリンパ節生検の目的で開腹し、同時に動注カテーテルを亜選択的に挿入した。組織学的検査にて、旁大動脈、左内・外腸骨リンパ節に転移を認めた。

PAM療法2コース終了後PRとなり、3コース終了後に原病巣の消失を認めた。この時点での腫瘍マーカーはCEA (3.7 ng/ml), CA-125 (10 U/ml) は正常域、SCCは2.2 ng/mlと著明に減少した。動注4コース終了後に全骨盤照射を施行した。治療後7年半を経過したが再発を認めず生存している。

②症例5：頸部腺癌IV b期。骨盤壁まで達する旁結合織浸潤とVirchowリンパ節が触知された。この触知されたリンパ節は超音波上も4.4×2.8 cmの腫瘍として観察され、さらにこの部位の穿刺細胞診にて腺癌細胞を確認した。静注PAM療法2コース終了時にはこの転移巣が消失し、原病巣も1/2以下となり子宮の可動性も認められPRと判定した。4コース終了時には頸部擦過細胞診はclass IIとなり、CT, MRIでもPRが確認されたため、手術を施行した。原病巣はごく一部に変性した小病巣を認めるのみで効果判定規準のgrade 3であった。その後、PAM療法を3回追加し、初回療法より2年を経過した現在も全く再発徴候を認めず生存している。

③症例7：頸部腺癌再発。8年前にII b期の診断で広汎性子宮全摘術を施行し、リンパ節転移陰性のため追加療法を施行せず経過観察していた。CT, MRIにて腹壁と脾門部に腫瘤を認めた。臍部直下の腹壁に、超音波で4.5×5.8 cmの腫瘤を認め、穿刺細胞診にて腺癌細胞が確認された。静注PAM療法3コース終了後、腹壁、脾門部の腫瘤は50%以上減少した。腫瘍マーカーは治療前のCA-125が193 U/mlであったが、4コース終了時には正常値(21 U/ml)となった。6コース終了後、大網切除、腹壁切除術を施行したが、腹壁腫瘤はほぼ壊死状態のgrade 3を示し、脾門部の腫瘤は完全に消失していた。

#### 3・3・2 組織学的効果の検討

症例4, 5, 7～9はPAM療法後手術を施行した。これらの手術摘出物の結果、症例5, 7はgrade 3, 症例8はgrade 2と組織学的効果を認めたが、PRを示した高分化型腺癌(adenoma malignum) 症例4, 類内膜型腺癌症例9はgrade 1aと組織学的には有効と認められなかった。



Table 7 子宮頸部腺癌に対する化学療法の報告例

報 告 書	化 学 療 法 内 容	対 象 患 者	前 治 療	組 織 型	投 与 法	奏 功 率 %
Piver et al(1978) <sup>13)*1</sup>	ADM(単独または併用)	進行癌		Ad	静 注	18.2(CR1+PR1/11)
荷見ら(1982) <sup>14)</sup>	CDDP+CPM+ADM	再発癌	Ope+RT or RT	Ad	静 注	100(PR3/3)
Slayton et al(1984) <sup>15)</sup>	VP-16	進行・再発癌	RT or Chemo	Ad+Ads(4人)	静 注	5.3(PR1/19)
Wheelock et al(1985) <sup>16)</sup>	MTX+CDDP+ADM	再発癌	RT or RT+Ope	Ad+Ads(4人)	静 注	20(PR1/5)
志田ら(1986) <sup>17)</sup>	CDDP+MMC	進行・再発癌	RT	Ad	動 注	50(PR1/2)
Thigpen et al(1986) <sup>18)</sup>	CDDP	進行・再発癌	ホルモン剤, Ope, RT or Chemo	Ad	静 注	25(CR1+PR2/12)
Kavanagh et al(1987) <sup>19)</sup>	CDDP+ADM+5FU	進行・再発癌	RT, Ope, Chemo	Ad	静 注	41.7(CR6+PR4/24)
塩谷ら(1988) <sup>20)</sup>	CDDP+5FU	進行癌		Ad	動 注	100(CR2/2)
Lele et al(1989) <sup>21)</sup>	CDDP	再発癌	不 詳	Ad	静 注	12.5(2/16)
清水ら(1990) <sup>22)</sup>	CDDP+5FU	進行癌		Ad	動 注	100(CR1/1)
Bates et al(1991) <sup>23)</sup>	CDDP+MMC	進行癌		Ad	静 注	100(CR1/1)
Sutton et al(1992) <sup>24)</sup>	Ifosphamide	進行・再発癌	RT or Ope, Chemo	Ad+Ads(9人)	静 注	15(CR1+PR5/40)
片岡ら(1993) <sup>25)</sup>	CDDP+CPM or CDDP+ADM	進行癌		Ad	動 注	100(PR2/2)
杉森ら(1993) <sup>26)</sup>	MMC+VP16+CDDP	進行癌*2		Ad	静 注	37.5(CR1+PR2/8)
著者ら	MMC+CDDP+ACM	進行・再発癌	Ope or RT	Ad+Ads(1人)	静注(4例)+ 動注(5例)	66.7(CR1+PR5/9)

\*1: 腫瘍を含む可能性あり

Ad: adenocarcinoma

Ope: operation

RT: radiation therapy

Chemo: chemotherapy

Ad: adenocarcinoma

Ads: adenosquamouscarcinoma

Ope: operation

RT: radiation therapy

Chemo: chemotherapy

### 3・3・3 副作用

Grade 2 以上で治療を必要とした主な副作用は骨髄抑制であり、白血球減少は grade 2, 3 を 1 例ずつ認めたが G-CSF の投与によって軽快した。また, grade 3 の血小板減少を 2 例に認め、血小板輸血を施行した。そのほかの副作用は grade 1 以下であり、重篤なものは見られなかった。

## 4 考 察

### 4・1 In vitro での抗癌剤感受性に関して

抗癌剤感受性の効果判定については従来の human tumor clonogenic assay (HTCA) では臨床使用量での最高血中濃度の 1/10 の 1 時間接触で 70% 以上のコロニー形成抑制率の条件で効果を判定していたが、われわれが施行した実験結果をこの基準で判定すると婦人科領域で使用頻度の高い 12 種類の抗癌剤はすべて無効と判定され、頸部腺癌の抗癌剤感受性の低さを痛感させられた。しかし、抗癌剤との接触時間については、従来の HTCA の 1 時間接触だけで効果を判定した場合、cycle phase specific な時間依存性の強い薬剤の効果が過小評価される危険性が高く、最近では最高血中濃度の 1 時間接触あるいはその 1/10 濃度の持続接触で検討した報告がみられる<sup>5)</sup>。そこで判定基準を 1 時間接触あるいはその 1/10 濃度の 24 時間接触で 70% 以上のコロニー形成抑制率を条件とすると、VP-16, ACM, ADM, ACD が 4 株すべてに共通の感受性を示した。また、MMC は内頸部型腺癌の 3 株すべてに高い感受性を示した。しかし、CDDP は CAC-1 にのみ感受性を示し、他の 3 株では無効と判定された。

ヌードマウス移植腫瘍に対して上記の in vitro で感受性を示した抗癌剤の VP-16, ACM, ACD, MMC と CAC-1 にのみ感受性を示したが産婦人科領域でその効果が顕著であり、繁用されている CDDP を加えた 5 剤を使用し、in vivo での基礎的検討を追加した。この結果、MMC はすべての細胞株で、CDDP は OMC-4 を除く 3 細胞株で有効と判定された。VP-16 は in vitro で有効と判定されたがヌードマウス移植腫瘍系を使用した in vivo 実験系では 4 株とも無効と判定され相反する結果となった。この点に関しては同様の株を用いた杉下、坂本<sup>6)</sup>の MTT assay、斎藤ら<sup>7)</sup>の clonogenic assay でも in vitro の実験系で VP-16 は有効と判定されており、われわれの実験結果と同様であるが、その同一株についてヌードマウス移植腫瘍系で検討した場合、無効と判定されている報告がほとんどである。この原因に関しては不明であるが、VP-16 は

腹腔内投与でも血中移行度が高く、今回のヌードマウス移植腫瘍系の実験で腹腔内に投与した量は臨床使用量よりはるかに多量であり、血中濃度が低いために無効と判定されたとは少なくとも考えられない。in vitro と in vivo での効果が異なることについては、一般的に in vitro では true negative の信頼度は高いが true positive の信頼度は比較的低いと報告<sup>8)</sup>されていること、in vitro の実験系より間質系を備えたヌードマウス移植腫瘍を用いた in vivo の実験系の方がヒト生体内での腫瘍環境に近く優れていると考えられることから、in vivo の実験系をより重視すべきと考えられた。

今回の disease oriented screening system で検討した基礎実験では、単剤投与で MMC と CDDP の 2 剤が有効と判定され、さらに、この 2 剤の併用は相加効果を上回る効果を示したことから key drugs と考えた。次に MMC, CDDP に加える第 3 の薬剤の選択は単剤での効果は劣るが ACM, ACD が VP-16 に比較して良好な成績を示したこと、ヌードマウスの実験系で腫瘍の消失や腫瘍の退縮が認められた例がほとんどなく、頸部腺癌の抗癌剤感受性の低さを痛感させられたことから、臨床投与に際しては dose intensity を高めるために動注可能な薬剤である ACM を選択して、CDDP + ACM + MMC の 3 剤を併用した PAM 療法を考案した。

### 4・2 臨床効果に関する検討

扁平上皮癌症例に対する放射線療法の効果は認められているが、一方頸部腺癌の放射線感受性は一般的に低いとの報告が多い。Sternen *et al.*<sup>9)</sup>、荷見ら<sup>10)</sup>による報告でも頸部腺癌に対する放射線療法単独の限界を示唆している。また、Hopkins, Morley<sup>11)</sup>、Moberg *et al.*<sup>12)</sup>による stage IIIb 期に対する放射線療法単独の 5 年生存率は 10% 以下であり、放射線療法単独では扁平上皮癌のその効果と比較して感受性の低さを指摘している。本邦での報告<sup>10)13)</sup>を見ても扁平上皮癌と同等な成績をあげることは困難な結果となっている。

これらの事実を考慮し、われわれは基礎実験で得られた PAM 療法を実際に臨床で使用し、効果の検討を開始した。また、現在までの頸部腺癌の化学療法に対する報告を Table 7 に示す。本邦においては、杉森<sup>27)</sup>によって考案された MMC, VP-16, CDDP の 3 剤を使用した MEP 療法が 1992 年 3 月より婦人科がん化学療法共同研究会の第 5 次特定研究として臨床試験が開始されたが、この全国統計の結果はまだ公表されていないが、杉森が他施設との共同研究で 9 例 (評価可能症例 8 例) に使用した結果、奏効率 38% (CR1 例, PR2

例)であったと報告している。

次に各報告者の使用薬剤に関して検討すると、20%以上の奏効率を示した11の報告でCDDPを単剤あるいは併用薬剤の1つとして含んでいるものが全例であった。つづいてADM, MMC, ACMの抗生物質系の使用が多く、臨床的にCDDPに次ぐ効果が示唆された。しかし、杉森がregimenの抗癌剤の1つとして使用しているVP-16はSlayton *et al.*<sup>16)</sup>によると頸部腺癌症例に対してVP-16単剤投与で効果を検討したが19例中1例にPRを認め、5.3%と低い奏効率に終わったことを報告している。以上の諸家の報告はわれわれが示したin vitro, in vivoの基礎実験をより得られたPAM療法を支持する臨床結果と考えられた。

抗癌剤投与経路による奏効率の変化に関して諸家の報告より検討した結果、CDDPを含むregimenの場合、動注、静注それぞれの奏効率は83.3 (8/12)%, 34.2 (25/73)%と圧倒的に動注の効果が高く、CRの率も33.3%, 12.3%と動注の高い効果が確認された。われわれの結果でも動注、静注での奏効率の違いは80.0 (4/5)%, 50.0 (2/4)%で動注療法の効果が明かに高かった。このことはPAM療法で使用したCDDP, ACM, MMCが下山、木村の分類<sup>28)</sup>によると、共に濃度依存性が強い薬剤であり、動注の効果を生かすために合理的なregimenであると考えられたが、静注においても50.0%の奏効率を示し、動注、静注ともに効果が期待されるものと考えられた。しかし、症例数がまだ十分ではなく、今後、更に症例数を増やし検討を加えることが必要と考えられた。

頸部腺癌に対する新たな化学療法regimenとしてのわれわれの考案したPAM療法の奏効率66.7%と高い奏効率を示し、諸家の報告を上回る結果となった。従って、進行・再発症例の寛解導入、また術後リンパ節転移の認められたhigh risk群に対する補助化学療法として頸部腺癌患者の予後改善に貢献することが可能な化学療法のregimenであることが示唆された。

## 5 要 旨

扁平上皮癌と比較して予後不良とされている頸部腺癌の予後を改善することを目的に集学的治療の1つとして、有効な化学療法の選択を検討した。抗癌剤の選択にあたってまず、in vitroの基礎実験で、5種類の抗癌剤を選択し、ついでヌードマウスを使用したin vivoの実験系を追加し、単剤、多剤併用での効果に関する検討を加えた。それらの結果より得られたCDDP, ACM, MMCの3剤を併用したPAM療法を考案し、

9例の進行・再発子宮頸部腺癌患者に使用し、その結果に関しても検討した。

### 5・1 In vitroでの抗癌剤感受性の結果

1) microcolonies inhibition testの結果、VP-16, ACM, ADM, ACDの4抗癌剤が4細胞株に感受性を示した。MMCは内頸部型の3株に高い感受性を示した。

### 5・2 In vivoでの抗癌剤感受性の結果

1) 腫瘍増殖抑制率からの抗癌剤感受性結果。

I. R. が58%以上を示した抗癌剤は単剤ではMMCが4細胞株全てに、CDDPはOMC-4を除く3細胞株に感受性を示した。

多剤併用ではMMC, CDDPの併用、あるいはそれら2剤を含む3剤での併用にてI. R. が58%を上回ることが多かった。また、MMC, CDDPの2剤併用では全ての細胞株において相加効果を上回った。

2) 組織学的効果判定

I. R. と組織学的効果判定との一致率は互いに有効と判定された率は35.7%で、互いに無効と判定した一致率は82.4%であり、無効例では組織学的効果判定は高い信頼で抗癌剤の感受性のないことが示された。

### 5・3 臨床症例におけるPAM療法の効果の検討

基礎実験より得られた結果よりCDDP, ACM, MMCの3剤を併用したPAM療法を再発症例1例を含む計9例に対して施行した結果、CR1例、PR5例で奏効率66.7%と高い奏効率を得た。また、副作用に重篤なものは見られなかった。

以上より頸部腺癌に対する化学療法は現況ではわれわれが考案したPAM療法が諸家の報告を上回り、集学的治療の1つとして有用な治療法と考えられた。

稿を終えるにあたり、御指導、御校閲を頂きました本学産婦人科学講座、工藤隆一教授、早川 修講師に深甚なる謝意を表します。

## 参考文献

1. 早川 修, 工藤隆一, 小泉基生, 山内 修, 山本裕之, 竹原正輝. ヒト子宮頸部腺癌培養細胞株(CAC-1)の樹立とその性状および各種抗癌剤に対する感受性の検討. 札幌医誌, 1988, 57: 603-611.
2. 竹原正輝, 早川修, 工藤隆一. 子宮頸部腺癌の化学療法に関する基礎的・臨床的検討. 日産婦誌, 1995, 47: 405-412.
3. 竹原正輝, 早川修, 福中規功, 林卓宏, 小泉基生, 工藤隆一. PAM療法(CDDP+ACM+MMC)による進行・再発子宮頸部腺癌の治療成績. 日癌誌, 1995,

- 12: 1888-1896.
4. 北野司久, 長瀬千秋. 培養人癌細胞を用いた感受性テスト—Microcolonies inhibition test を中心に—. 癌と化学療法 1982, 9: 590-598.
5. Jones CA, Tsukamoto T, O'Brien PC, Uhr CB and Alley MC. Soft agarose culture human tumour colony forming assay for drug sensitivity testing: H-thymidine in corporation vs colony counting. *Br. J. Cancer* 1985, 52: 303-310.
6. 坂本 優, 杉下 匡. 頸部腺癌細胞の細胞生物学的研究. 昭和 62・63 年度厚生省がん助成金による「子宮頸部腺がんの治療法確立に関する研究」報告集, 1989, 173-177.
7. 斎藤俊章, 園田頭三, 杉原耕一郎, 岡留雅夫, 嘉村敏治, 塚本直樹, 中野仁雄. 子宮頸部腺癌細胞の抗癌剤感受性に関する基礎的研究. *Oncology & Chemotherapy* 1993, 9: 108-114.
8. Chabner BA. Clinical strategies for cancer treatment: the role of drugs. In: Chabner BA, Collins JM, editors. *Cancer Chemotherapy*. Philadelphia: Lipincott, 1990: 1-15.
9. Stern A, Nguyen HN, Averette HE. Radical hysterectomy for stage Ib adenocarcinoma of the cervix. *Gynecol Oncol*, 48: 355-359.
10. 荷見勝彦, 平井康夫, 手島英雄, 増淵一正, 坂本彦, 久保久光. 子宮頸部腺癌をめぐる話題—子宮頸部腺癌の悪性度ならびに Biological behavior について. 産と婦 1988, 3: 373-376.
11. Hopkins MP, Morley GW. Comparison of adenocarcinoma and squamous cell carcinoma of the cervix. *Obstet Gynecol* 1991, 77: 912-917.
12. Moberg PJ, Einhorn N, Silfversward C, Soderberg G. Adenocarcinoma of the uterine cervix. *Cancer* 1986, 57: 407-410.
13. 婦人科腫瘍委員会第 32 回治療年報: 1975-1984 年に治療した子宮頸癌の 5 年, 7 年及び 10 年治療成績. 日産婦誌 1994, 46: 935-1001.
14. Piver MS, Barlow JJ, Xynos FP. Adriamycin alone or in combination in 100 patients with carcinoma of the cervix or vagina. *AM J Obstet Gynecol* 1978, 131: 311-313.
15. 荷見勝彦, 小林拓郎, 松沢真澄, 高橋道子. 子宮頸部腺癌再発の早期発見とその治療の試み. 日産婦誌 1982, 34: 833-836.
16. Slayton RE, Blessing JA, Homesley HD. Phase II trial of etoposide in the management of advanced or recurrent nonsquamous cell carcinoma of the cervix. A gynecological oncology group study. *Cancer Treat Rep* 1984, 68: 1513-1514.
17. Wheelock JB, Krebs H, Goplerud DR, Myers M. Cisplatin, doxorubicin, and methotrexate treatment for recurrent cervical cancer. *Obstet Gynecol* 1985, 66: 410-412.
18. 志田則夫, 長野浩明, 鎌田裕之, 小尾俊一, 村上章, 宮川 昇, 植田国昭, 鈴木謙三, 高橋元一郎, 深谷哲昭. 骨盤内進行癌, 再発癌に対する BOAI 法. 日産婦東京会誌 1986, 35: 432-436.
19. Thigpen JT, Blessing JA, Fowler WC, Hatch K. Phase II trials of cisplatin and piperazine-dione as single agents in treatment of advanced or recurrent non-squamous cell carcinoma of the cervix: A gynecologic oncology group study. *Cancer Treat Rep* 1986, 70: 1097-1100.
20. Kavanagh JJ, Gershenson D, Copeland L, Roberts WS. Combination chemotherapy for metastatic or recurrent adenocarcinoma. *J Clin Oncol* 1987, 5: 1621-1623.
21. 塩谷雅英, 本多秀明, 西 修, 宮崎好一, 佐々木太郎, 山田 良. 動注化学療法が奏功した進行子宮頸部腺癌の二症例. 日産婦誌 1988, 40: 1903-1906.
22. Lele SB, Piver MS. Weekly cisplatin induction chemotherapy in the treatment of recurrent cervical carcinoma. *Gynecol Oncol* 1989, 33: 6-8.
23. 清水敬夫, 手島英雄, 藤本郁野, 荷見勝彦, 増淵一正. 持続動注化学療法が奏功した膀胱壁浸潤を有する子宮頸部腺癌Ⅲ b 期の 1 症例. 日癌治誌 1990, 25: 2584-2588.
24. Bates R, Deppe G, Malone JM, Budev H, Christensen CW, Maivya VK. Combination chemotherapy for advanced adenocarcinoma of cervix. *Cancer* 1991, 68: 747-750.
25. Sutton GP, Blessing JA, Disaia PJ, McGuire WP. Phase II study of ifosfamide and in non-squamous carcinoma of the cervix: A gynecologic oncology group study. *Gynecol Oncol* 1993, 49: 48-50.
26. 片岡明生, 横田大介, 岡 邦彦, 木村 聡, 河野勝一, 野崎善美, 薬師寺道明. 抗癌剤の動脈内投与法による化学療法が奏功した子宮頸部腺癌の 2 例. 日癌治誌 1993, 28: 936-941.
27. 杉森 甫. 子宮頸部腺癌の化学療法. *Oncology & Chemotherapy* 1993, 9: 99-102.
28. 下山正徳, 木村禧代二. 化学療法. 大星章一, 菅野春夫編. 人癌細胞の培養. 朝倉書店, 1975, 477-499.

別刷請求先:

(〒060) 札幌市中央区南 1 条西 16 丁目

札幌医科大学医学部産婦人科学講座 竹原正輝